

# Xpert<sup>®</sup> FFPE Lysis Kit

**REF** GXFFPE-LYSIS-CE-10

Upute za upotrebu

**IVD** **CE**

## **Izjave o zaštitnom znaku, patentima i vlasničkim pravima**

### **Trademark, Patents and Copyright Statements**

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

**© 2016-2022 Cepheid.**

See Section 16, Revision History for a description of changes.

Cepheid<sup>®</sup>, logotip Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> i Xpert<sup>®</sup> zaštitni su znakovi društva Cepheid, registriranog u SAD-u i drugim državama.

Svi ostali zaštitni znakovi vlasništvo su svojih odnosnih vlasnika.

KUPNJOM OVOG PROIZVODA KUPCU SE DODJELJUJE NEPRENOSIVO PRAVO NA NJEGOVU UPOTREBU U SKLADU S OVIM UPUTAMA ZA UPOTREBU. NIKAKVA SE DRUGA PRAVA NE DODJELJUJU IZRIČITO, IMPLICITNO ILI PREKLIZIJOM. NADALJE, KUPNJOM OVOG PROIZVODA NE DODJELJUJU SE NIKAKVA PRAVA NA PREPRODAJU.

**© 2016-2022. Cepheid.**

Pogledajte Odjeljak 16, Povijest revizija za opis promjena.

# Xpert<sup>®</sup> FFPE Lysis Kit

---

*In vitro* dijagnostički medicinski proizvod

## 1 Predviđena svrha

### 1.1 Namjena

Xpert<sup>®</sup> FFPE Lysis Kit je osmišljen za lizu tkiva fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin te očuvanje nukleinskih kiselina za naknadnu analizu GeneXpert<sup>®</sup>.

### 1.2 Predviđeni korisnik/okruženje

Test Xpert FFPE Lysis Kit trebaju provesti obučeni korisnici u laboratorijskom okruženju.

## 2 Načelo postupka

Tkivo fiksirano u formalinu i uklopljeno u parafin (sa svitka ili stakalca) postavlja se u epruvetu zajedno s preporučenim volumenom reagensa za lizu fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin i proteinaze K iz Xpert FFPE Lysis Kit. Uzorak se zatim inkubira u toplinskom bloku na 80 °C otprilike 30 minuta. Tijekom te inkubacije događa se sljedeće:

1. zagrijana otopina počinje otapati parafinski vosak.
2. Reagens za lizu provodi reverznu reakciju križnog povezivanja proteina stvorenog tijekom postupka fiksiranja u formalinu.
3. Proteinaza K probavlja proteine i inaktivira nukleaze (RNaze & DNaze) koje bi inače mogle smanjiti kvalitetu DNK i RNK.

Na kraju, etanol se zatim dodaje uzorku, a preporučeni volumen pripremljenog lizata uzorka dodaje se izravno u predviđeni uložak GeneXpert.

## 3 Isporučeni materijali

Xpert FFPE Lysis Kit (1 komplet, dovoljno za pripremu 10 lizata)

Svaki komplet sadržava:

- 1 vrećicu s 10 epruveta od 1,5 ml
- 1 vrećicu s 10 bočica od 5 ml
- 1 bocu s 13 ml reagensa u rasutom stanju za lizu fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin
- 1 epruvetu s 250 µl reagensa proteinaze K u rasutom stanju

## 4 Potrebni materijali i oprema koji nisu isporučeni

- Mikrotom
- Jednokratni žileti ili skalpeli (za makrodisekciju)
- Pipete i vrhovi pipeta s filtrom prikladni za precizan prijenos 5 µl, 20 µl, 260 µl i 600 µl
- Toplinski blok prikladan za držanje epruveta za mikrocentrifugu od 1,5 ml (i držanje na 80 °C)
- Stolna vrtložna miješalica
- Standardna stolna mikrocentrifuga s fiksnim kutnim rotorom koji prihvaća epruvete za mikrocentrifugu od 1,5 ml

- ≥ 95 %-tni etanol reagensijske čistoće
- Jednokratne rukavice
- Naljepnice ili oznake za identifikaciju uzorka

## 5 Upozorenja i mjere opreza

- Sa svim biološkim uzorcima treba postupati primjenjujući standardne univerzalne mjere opreza. Uzorcima smije rukovati samo osoblje obučeno o rukovanju biološki opasnim materijalima.
- Rukujte svim reagensima za uzorak i komplet odgovarajućim tehnikama kako biste spriječili ili umanjili kontaminaciju RNaze i/ili DNaze.
- Nemojte ponovno upotrebljavati žilete za makrodisekciju, vrhove pipeta ili epruvete/bočice kako biste spriječili križnu kontaminaciju tijekom rukovanja uzorkom.
- Prolivene epruvete za reagens ili epruvete iz kojih curi sadržaj treba odložiti u otpad i ne smiju se upotrebljavati.
- Slijedite sigurnosne procedure svoje ustanove za rad s kemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima.
- Nepotpuno uklanjanje (struganje) područja tumora sa stakalca za pripremu lizata fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin može dovesti do nedovoljne količine materijala za test, a time i do višeg postotka neodređenih/**NEVAŽEĆIH (INVALID)** rezultata testovima Xpert nego što je očekivano.
- Proučite Xpert FFPE Lysis Kit sigurnosno-tehnički list (SDS) dostupan na mreži na stranici [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) za detaljne informacije o sigurnosti i odlaganju dijelova kompleta za lizu fiksiranu u formalinu i uklopljenu u parafin u otpad. Važne informacije iz sigurnosno-tehničkog lista navedene su u nastavku.
  - Otpad od proizvoda – odložite sadržaj i/ili spremnik (spremnike) u otpad u skladu s lokalnim, regionalnim, nacionalnim i/ili međunarodnim propisima.
  - Ambalažni otpad – odložite sadržaj i/ili spremnik (spremnike) u otpad u skladu s lokalnim, regionalnim, nacionalnim i/ili međunarodnim propisima.

## 6 Kemijske opasnosti

**Oznake upozorenja:** H319 Uzrokuje ozbiljno nadraživanje očiju

**Oznake obavijesti:**

P264:	Nakon rukovanja proizvodom temeljito oprati
P280:	Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu odjeću/zaštitu za oči/zaštitu za lice
P302 + P351 + P338:	U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: pažljivo ispirite vodom nekoliko minuta. Skinite kontaktne leće, ako ih nosite i ako se lako skidaju. Nastaviti ispiranje.
P337 + P313:	Ako nadraživanje oka ne prestaje: potražite savjet/liječničku pomoć.

## 7 Zahtjevi za čuvanje kompleta

Xpert FFPE Lysis Kit se mora čuvati na 2 – 28 °C i upotrijebiti prije isteka roka valjanosti (pogledajte naljepnicu na vanjskom pakiranju kompleta). Komplet se može zatvoriti i ponovno otvoriti radi dodatne obrade uzoraka u roku od osam tjedana nakon prvotnog otvaranja.

## 8 Zahtjevi za tkivo fiksirano u formalinu i uklopljeno u parafin

1. Uzorke je potrebno fiksirati samo u 10 %-tnom neutralnom puferiziranom formalinu u trajanju od 6 do 72 sata radi testiranja testom Xpert za koji je potreban RNK ili DNK iz tkiva fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin.
2. Neko tkivo fiksirano u formalinu i uklopljeno u parafin starije od 10 godina može biti nedovoljne kvalitete za analizu sustavom GeneXpert.
3. Patolog treba odabrati tkivo fiksirano u formalinu i uklopljeno u parafin/tumorski blok s najvećim područjem vidljivog prihvatljivog tkiva/tumora za provedbu testa.

4. Za test Xpert potrebno je neobojano tkivo postavljeno na stakalce radi obrade. Ako je potrebna makrodisekcija, upotrijebite susjedno stakalce obojeno H&E bojom iz tumorskog bloka fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin kao vodič kako biste bili sigurni da područje tumora identificirano na stakalcu obojenom H&E bojom predstavlja područje tumora na neobojenom stakalcu.
5. Proučite uputu za test Xpert za dodatne informacije.

## 9 Priprema stakalca/svitka

Za pripremu tkiva fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin pomoću ovog kompleta za lizu potreban je dio (dijelovi) tkiva postavljeni na neobojano stakalce ili svitak (svitci) za obradu i obližnje stakalce obojeno H&E bojom iz istog bloka tkiva.

1. Pomoću mikrotoma odrežite dio za H&E bojilo debljine 4 do 5 µm.
2. Odrežite okolni dio debljine 4 do 5 µm, ili svitak, za upotrebu u kompletu za lizu fiksiranom u formalinu i uklopljenom u parafin.
  - Za uzorke kod kojih je potrebno više stakalaca/svitaka kako bi se ispunili minimalni zahtjevi testa Xpert, sva se stakalca/svitci moraju obraditi zajedno.
3. Da biste pripremili dio (dijelove) tkiva, pridržavajte se standardnih histoloških tehnika.
  - Pobrinite se da su dijelovi tkiva potpuno suhi.
  - Dio (dijelove) stakalca za lizu fiksiranu u formalinu i uklopljenu u parafin treba čuvati na 2 °C do 8 °C i obraditi u roku od dva tjedna nakon pripreme; no svježije izrezani dijelovi dat će najvišu kvalitetu i najpouzdanije rezultate budući da se mRNA brže razgrađuje na dijelovima stakalca izloženima zraku nego u blokovima fiksiranima u formalinu i uklopljenima u parafin.
4. Da biste pripremili svitak (svitke) tkiva, pridržavajte se koraka u nastavku.
  - Postavite svitak (svitke) u priloženu epruvetu za lizu od 1,5 ml. Označite epruvetu za svaki uzorak koji će se obraditi.
  - Svitak (svitke) u epruveti od 1,5 ml treba čuvati na 2 °C do 8 °C i obraditi u roku od 2 tjedna nakon pripreme.

## 10 Uklanjanje tkiva sa stakalca

1. Označite epruvetu za lizu od 1,5 ml (priložena) za svaki uzorak koji će se obraditi.
2. Ako makrodisekcija nije potrebna:
  - a. pomoću novog žileta ili skalpela za svaki uzorak tkiva koji će se obraditi potpuno uklonite (sastružite) čitav dio tkiva sa stakalca i prenesite ga u označenu epruvetu za lizu od 1,5 ml.
  - b. Dio (dijelove) u epruveti od 1,5 ml treba čuvati na 2 °C do 8 °C i obraditi u roku od 2 tjedna nakon pripreme.
3. Ako je potrebna makrodisekcija:
  - a. pregledajte stakalce s H&E bojom (patolog). Identificirajte (i ocrtajte) područje tumora za test. Proučite uputu za test Xpert za potreban broj stakalaca ili minimalnu potrebnu celularnost tumora.
  - b. Pripremite za makrodisekciju (patolog). Ocrtajte područje tumora koje će se upotrijebiti za test sa stražnje strane neobojenog stakalca (stakalca) poravnanjem s odgovarajućim stakalcem s H&E bojom i prenošenjem ocrtanog područja.
  - c. Provedite makrodisekciju (patolog ili tehničar). Pomoću novog žileta ili skalpela za svaki uzorak tkiva koji će se obraditi potpuno uklonite (sastružite) ocrtano tkivo invazivnog tumora sa stakalca (pogledajte Sliku 1) i prenesite ga u označenu epruvetu za lizu od 1,5 ml.
  - d. Dio (dijelove) koji su podvrgnuti makrodisekciji u epruveti od 1,5 ml treba čuvati na 2 °C do 8 °C i obraditi u roku od 2 tjedna.



Slika 1. Primjeri ispravnog (preporučenog) i neispravnog (nepreporučenog) uklanjanja tkiva sa stakalca

<b>A</b>	<b>Referentno stakalce obojeno H&amp;E bojilom</b>
<b>B</b>	<b>Nepreporučeno (nedovoljno uklonjenog tkiva)</b>
<b>C</b>	<b>Preporučeno</b>

## 11 Obrada tkiva fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin

1. Dodajte 1200 µl (1,2 ml) reagensa za lizu fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin i 20 µl proteinaze K u epruvetu koja sadržava uzorak fiksiran u formalinu i uklopljen u parafin, a zatim pričvrstite čep.
2. Promiješajte uzorak u vrtložnoj miješalici najmanje 10 sekundi, a zatim kratko impulsno centrifugirajte uzorak (kako biste uklonili tekućinu sa čepa).
3. Inkubirajte uzorak najmanje 30 minuta u toplinskom bloku prethodno zagrijanom na 80 °C.
4. Nakon inkubacije na 80 °C promiješajte uzorak u vrtložnoj miješalici najmanje 10 sekundi, a zatim kratko impulsno centrifugirajte uzorak.
5. Pomoću pipete prenesite čitav uzorak (~1,2 ml) u označenu bočicu za uzorak od 5 ml.
6. Dodajte 1200 µl > 95 %-tnog etanola uzorku i pričvrstite čep.
7. Promiješajte uzorak u vrtložnoj miješalici najmanje 15 sekundi.

## 12 Obrada tkiva fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin – koncentrirani lizat
















Pridržavajte se ovog protokola ako je potreban koncentriraniji lizat zbog nedovoljno uzorka (to treba razmotriti kod područja tumora  $\leq 6 \times 1 \text{ mm}^2$  na uzorku sastruganom na stakalce). Proučite uputu za test Xpert za dodatne informacije.

1. Dodajte 260 µl reagensa za lizu fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin i 5 µl proteinaze K u označenu epruvetu od 1,5 ml koja sadržava uzorak fiksiran u formalinu i uklopljen u parafin, a zatim pričvrstite čep.
2. Promiješajte uzorak u vrtložnoj miješalici najmanje 10 sekundi, a zatim kratko impulsno centrifugirajte uzorak (kako biste uklonili tekućinu sa čepa).
3. Inkubirajte uzorak najmanje 30 minuta u toplinskom bloku prethodno zagrijanom na 80 °C.
4. Nakon inkubacije na 80 °C promiješajte uzorak u vrtložnoj miješalici najmanje 10 sekundi, a zatim kratko impulsno centrifugirajte uzorak.
5. Dodajte 260 µl  $\geq 95$  %-tnog etanola u istu epruvetu za lizu od 1,5 ml i pričvrstite čep.
6. Promiješajte uzorak u vrtložnoj miješalici najmanje 10 sekundi, a zatim ga kratko impulsno centrifugirajte.

## 13 Čuvanje i prijevoz uzoraka

Pripremljeni lizat s etanolom treba prevesti u laboratorij na 2 °C do 8 °C ako će se testiranje provesti u roku od tjedan dana. Ako će se test provesti nakon toga, lizat fiksiran u formalinu i uklopljen u parafin stabilan je i može se čuvati do 4 tjedna na  $\leq -20$  °C prije testiranja.

## 14 Tablica simbola

Simbol	Značenje
	Kataloški broj
	Oznaka CE – sukladnost s europskim propisima
	Sadrži dovoljno za $n$ testova
	Proizvođač
	Država proizvodnje
	Ograničenje temperature
	Kod serije
	Proučite upute za upotrebu
	Biološki rizici
	<i>In vitro</i> dijagnostički medicinski proizvod
	Ovlašteni predstavnik u Europskoj zajednici
	Ne upotrebljavati višekratno
	Oprez
	Upozorenje
	Rok valjanosti

## 15 Tehnička pomoć

### Sjedinjene Države

Telefon: + 1 888 838 3222

E-pošta: techsupport@cepheid.com

### Francuska

Telefon: + 33 563 825 319

E-pošta: support@cepheideurope.com

Podaci o kontaktu za sve urede tvrtke Cepheid za tehničku podršku dostupni su na našoj internetskoj stranici: [www.cepheid.com/en/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us)



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefon: + 1 408 541 4191

Telefaks: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Telefon: + 33 563 825 300

Telefaks: + 33 563 825 301

### Pojedinosti o uvozniku za EU / Švicarsku

Cepheid Netherlands BV  
1e Tochtweg 11  
2913LN  
Nieuwerkerk aan den IJssel  
Netherlands

Cepheid Switzerland GmbH  
Zurcherstrasse 66  
Postfach 124, Thalwil  
CH-8800  
Switzerland



## 16 Povijest revizija

**Opis promjena:** 301-5224 Rev. D do 302-6233 Rev. A

**Svrha:** za usklađivanje sa zahtjevima Uredbe (EU) 2017/746

Odjeljak	Opis promjene
1	Ažuriran odjeljak u „Predviđena namjena” i dodani pododjeljci „Namjena” i „Predviđeni korisnik/okruženje”
2	Dodan novi odjeljak „Načelo postupka”
4	Ažuriran odjeljak
5	Dodana referencija na SDS
7	Proširen odjeljak
9	Ažuriran postupak za pripremu stakalca/svitka
10	Ažuriran postupak za uklanjanje tkiva sa stakalca
11	Ažuriran postupak za obradu tkiva fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin
12	Ažuriran postupak za obradu tkiva fiksiranog u formalinu i uklopljenog u parafin s koncentriranim lizatom
15	Ažurirane informacije o tehničkoj pomoći
16	Dodan odjeljak „Povijest revizija”